

35. Varner J. E., Chandra G. R. Hormonal control of enzyme synthesis in barley endosperm. — Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1964, vol. 52, p. 100—106.
36. Varner J. E. Gibberellic acid controlled synthesis of α -amylase in barley endosperm. — Plant Physiol., 1964, vol. 39, N 3, p. 413—415.
37. Varner J. E., Jacobsen J. V. Gibberellic acid induced synthesis of protease by isolated aleurone layers of barley. — Plant Physiol., 1967, vol. 42, N 11, p. 1596—1600.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПРИЗНАКОВ ХЛОРОПЛАСТА У ХЛАМИДОМОНАДЫ СООБЩЕНИЕ I. СОЗДАНИЕ МНОЖЕСТВЕННО- МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ

Н. Н. АЛЕКСАНДРОВА, Л. П. КРЭЛА, В. В. ТУГАРИНОВ

Отдел генетики БиНИИ ЛГУ

Оценивая одноклеточную зеленую водоросль хламидомонаду как генетический объект, исследователи особо подчеркивают тот факт, что у этого организма имеется одно ядро, один хлоропласт и малое количество митохондрий (8—12) на клетку [19, 22]. Некоторые ученые приходят к выводу, что в клетке хламидомонады существует всего лишь одна митохондрия [17]. Именно эта относительно простая внутренняя организация дает возможность с большой точностью проводить генетическую локализацию мутаций: в ядре или в одной из органелл — хлоропласте, митохондриях.

Наличие в клетках хламидомонады по существу трех полуавтономных генетических систем дает основание предполагать существование «жесткой» функциональной взаимосвязи между генами различных клеточных компартментов, вовлеченными в один и тот же цикл биогенетических реакций. Экспериментальные данные подобного рода представляют интерес как с точки зрения сопоставления по данному критерию форм различных уровней организации (прокариота — эукариота), так и с точки зрения оценки степени участия ядра и генетически значимых систем цитоплазмы в метаболизме клетки. Однако такие сведения для хламидомонады носят несистематический характер [18, 23].

Разработка чисто генетических аспектов, например, локализация мутаций и исследование взаимодействий между мутациями, предполагает на первом этапе создание коллекции фертильных штаммов, включающих в себя различного рода комбинации исследуемых мутаций, в том числе генетических маркеров известных групп сцепления.

С целью изучения структуры и функции фотосинтетического аппарата хламидомонады, в лаборатории генетики микроорганизмов БиНИИ ЛГУ использовали две группы признаков: пигментация и реакция клетки на специфические ингибиторы белкового синтеза на хлоропластных и митохондриальных рибосомах [3].

Штаммы с нарушенным синтезом различных пигментов включают в себя нефотосинтезирующие (ас⁻), гибнущие на свету (lts), фототрофные — зеленеющие на свету, желтые в темноте. Последний класс описан как мутации типа «yellow» (Y) [21]. Ранее идентифицировано пять локусов светочувствительности (lts1, lts3, lts4, lts5, lts6), которые соответствуют трем фенотипическим классам [9, 10]. Как прямые, так и супрессорные мутации, контролирующие признак светочувствительности, наследуются по моногенной схеме через оба типа спаривания

[15]. Мутации типа «у» не обнаруживают сцепления ни с одной из ядерных групп сцепления [24], однако выявляется гетерогенность этой группы в отношении характера наследования [1]. Вопрос о том, к каким группам сцепления можно причислить мутации *lts* и *y*, остается пока открытым.

Мутации устойчивости к ингибиторам белкового синтеза на хлоропластных рибосомах представляют собой самостоятельный научный интерес. Во-первых, мутации антибиотикорезистентности (стрептомицин, эритромицин, спектиномицин, карбомицин, клеозин) сопровождаются специфическими изменениями 70S рибосом. Это обстоятельство предопределяет большую вероятность плеiotропного изменения признаков, генные продукты которых строятся на мутационно измененных хлоропластных рибосомах. Во-вторых, известно, что признаки антибиотикорезистентности у водорослей могут кодироваться как ядром, так и ДНК органеллы цитоплазмы (пластом, хондриом) [7].

В данной работе обсуждаются первые результаты по созданию генетических множественно-маркированных линий на основе гибридизации мутантных штаммов, полученных в нашей лаборатории и некоторых адаптированных маркированных линий из коллекций Р. Левина, В. Эберсолда, Н. Гилхама (США).

Материал и методы. В работе были использованы штаммы *Chlamydomonas reinhardtii*, относящиеся к разным сублиниям 137C и 137F из коллекции Отдела генетики Биологического института Ленинградского университета. Разнообразие признаков у мутантных штаммов хламидомонады, полученных от линий 137C (+) и (—), детально описано в работах К. В. Квитко [6] и К. В. Квитко и др. [4]. Генотипы исходных штаммов указаны в табл. 1 (с № 1—25).

Методика скрещивания и тетрадного анализа выполнялась по схеме, описанной А. В. Столбовой [8], или по модификации ее с использованием для разделения зооспор микроманипулятора ММ-1. О сцеплении изучаемых маркеров с центромерой судили по отклонению частот Р (родительского дитипа), N (неродительского дитипа) и Т (тетратипа) от теоретического соотношения 1:1:4. Анализ данных по локализации мутаций относительно своих центромеров будет дан в последующих работах.

Результаты и обсуждение. В результате проведения 32 скрещиваний с включением 23 маркеров были выделены множественно-маркированные линии, генотипы которых представлены в табл. 1 (с № 26—43). Наиболее ценными из них мы считаем линии, маркированные центромерными мутациями *arg-7* (I группа сцепления), *ac-17* (III), *can^R* (VII), *sr-1* (IX), *pic-13* (X), *pic-11* (IV), *pf-2* (XI) в сочетании с мутациями *lts*, *y*, *sr*, *ery^R*.

Общая оценка тетрадных расщеплений по анализируемым, описанным в литературе мутациям [7], подтвердила характер сцепления их относительно друг друга и относительно своих центромер (табл. 3 и 4).

Из скрещивания С-904 (табл. 2—3) следует, что мутации *y-1* и *y-28* не аллельны, локализованы в различных хромосомах и сцеплены со своими центромерами. Кроме того, тетрадный анализ с использованием маркера *y-28* не выявил сцепления его с VII и IX группами сцепления ядра, однако так же было выявлено сцепление его с центромерой (скр. С-717, С-728, С-729, см. табл. 2, 3 и 4). Мутация *y-27* не обнаруживает сцепления с генами *can^R* (VII) и *ac-29* (VI) (скр. С-754, С-751). В свою очередь, *y-1* не сцеплен с центромерными маркерами X (*pic-13*) и IX (*sr-1*) и VI (*mt*) групп сцепления (С-744 и С-912, см. табл. 2, 3, 4). Сочетание центромерных маркеров (*y-1*, *pic-13* и *sr-1*), как и ожидалось, приводит к снижению частоты тетрагипов

Характеристика исходных и полученных маркированных штаммов
Chlamydomonas reinhardtii

№	Шифр штаммов	Генотип и группа сцепления маркера	Происхождение
1	mt	Дикий тип, (—)	Получен от Р. Левина (США)
2	2/3	str ^R (sr-1), IX, (—)	Выделен со среды с антибиотиком 200 γ/мл, штамм mt
3	300-19a	str ^R (sr-1), IX, (+)	Рекомбинант из скр. C-300 (2/3 × № 13, (Its-4))
4	N-164/4	Its-1-164, str ^R (sr-1), (—)	Выделен со среды L 2 мин + стрептомицин (200 γ/мл, штамм N-164 [11])
5	N-149	Its-1-149, (—)	Получен А. В. Столбовой [8]
6	sr 2-60	str ^R , sr-u-2, (—)	Получен от Н. Гилхама (США)
7	GB 32/3	ac-20, (—)	Получен О. В. Филатовой, неопубл.) от штамма GB43
8	416/1	can ^R , VII, ery ^R -1, (+)	Выделены со среды с антибиотиком 150 γ/мл, штамм 416, полученный от В. Эберсольда (США)
9	416/3	can ^R , VII, ery ^R -3, (+)	
10	416/4	can ^R , VII, ery ^R -4, (+)	
11	416/5	can ^R , VII, ery ^R -5, (+)	
12	494	Дикий тип, (—)	Получен от Н. Гилхама (США)
13	494/30	Its-1-30, (—)	Обработка нитрозогуанидином, штамм 494 [2]
14	494/76	y-76, (—)	
15	494/28	y-28, (—)	
16	arg-7	arg-7, I, (—)	Получен от Н. Гилхама (США)
17	461	ac-29, VI, pf-2, XI, act ^R , VI? (—)	Получен от В. Эберсольда (США)
18	430	ac-17, III, nic-13, X, pf-2, XI, act ^R , II, VI? sr-1, IX, y-1, (+)	Получен от В. Эберсольда (США)
19	GB29	act ^R , ac-17, can ^R , nic-13, pf-2, y-1, sr-1, (—)	
20	GB12	nic-5, XIII, (—)	Получены от Н. Гилхама (США)
21	GB43	ac-20, XIII, (—)	
22	GB261	nic-11, IV, (—)	
23	160-6д	y-28, (+)	Рекомбинанты из скр. C-160 C-161 Получено Столбовой А. В., неопубл.
24	160-17г	y-28, (+)	
25	161-95б	y-27, (+)	
26	328-5в	ac-20, sr-1, (+)	Рекомбинант из скр. C-328
27	706-6г	can ^R , (—)	Рекомбинанты из скр. 706 и 720
28	720-42г	arg-7, I, ery ^R -4, (+)	
29	733-38в	ac-29, can ^R , ery ^R -3, (—)	Рекомбинанты из скр. C-733
30	733-39а	pf-2, ery ^R -3, (+)	
31	733-60в	ac-29, ery ^R -3, (—)	
32	740-18в	ac-29, act ^R , can ^R , pf-2, ery ^R -1, (—)	Рекомбинанты из скр. C-740
33	740-24д	ac-29, can ^R , act ^R , ery ^R -1, (—)	
34	740-28з	can ^R , act ^R , ery ^R -1, (+)	
35	743-2г	ac-29, ery ^R -5, act ^R , (—)	Рекомбинанты из скр. C-744, C-743
36	744-17г	pf-2, nic-13, ac-17, act ^R , sr-1, y-1, (+)	
37	744-21а	nic-13, act ^R , pf-2, (—)	
38	751-9е	y-27, ery ^R -x, (—)	Рекомбинанты из скр. C-751
39	751-9г	y-27, (+)	
40	751-12а	y-27, ery ^R -x, (+)	
41	751-12г	y-27, ery ^R -x, (—)	Рекомбинанты из скр. C-912, C-913
42	912-15в	nic-13, Its1-149, (—)	
43	913-20а	nic-5, Its1-149, (+)	

($P_{H_c} < 0,05$), что также не противоречит данным Сейджер [20] и Смита с соавторами [24]. Относительно маркера act^R мнения этих исследователей расходятся: Сейджер локализовала его во II группе сцепления, а Смит — в VI группе. Наши данные (скр. C-730, C-740), хотя и четко демонстрируют отсутствие сцепления факторов act^R и $ac-29$ (VI группа сцепления), но не исключают возможности локализации их в одной группе сцепления, так как по данным Смита, локус act^R картируется на 30 морганид вправо от центромеры VI группы сцепления, а $ac-29$ находится в левом плече данной хромосомы (24 морганиды).

Таблица 2

Номенклатурные обозначения
скрещиваний

Шифр скрещивания	Скрещивание
C-740	416/1 × 461
C-733	416/3 × 461
C-730	416/4 × 461
C-743	416/5 × 461
C-734	300—19a × 494/76
C-729	160—17r × 2/3
C-308	N 164/4 × mt
C-328	2/3 × GB 32/3
C-737	416/4 × 494/30
C-738	416/4 × 494/31
C-717	416/4 × 494/28
C-720	416/4 × arg-7
C-728	160-6д × 706-6r
C-757	161-956 × 733-38в
C-745	161-956 × 740-18в
C-751	sr 2-60 × 161-956
C-744	430 × 461
C-746	740-24д × 733-39a
C-748	740-28з × 733-60в
C-904	744-17r × 494/28
C-907	744-17r × sr 2-60
C-905	744-21a × 717-89д
C-754	751-9e × 416
C-912	N 149 × GB 29
C-913	N 149 × GB 12
C-914	N 149 × GB 261
C-704	494/27 × 416
C-705	494/28 × 416
C-753	751- 9e × wt
C-756	751-12a × 751-12r
C-755	751- 9e × 751- 9r
C-759	743- 2r × 733-39a

Тетрадный анализ фактора $lts-1$ выявил отсутствие сцепления его с факторами $pic-5$ (XIII), $pic-11$ (IV), $pic-13$ (X), $sr-1$ (IX) и факторами $y-1$ и egu^R-4 (C-308, C-738, C-737, C-912, C-913, C-914). Во всех скрещиваниях отмечено сцепление этого маркера со своей центромерой (табл. 4). Ранее было обнаружено, что $lts-1$ проявляет независимое наследование в отношении маркеров I и IX групп сцепления ($arg-7$ и $sr-1$ соответственно) [11, 13]. Частоты типов тетрад в списываемых авторами скрещиваниях тоже свидетельствовали о сцеплении маркера $lts-1$ со своей центромерой. Хотелось бы отметить, что ранее удалось выявить тесное сцепление мутаций $lts-5$, относящихся к той же группе сцеплений, что и $lts-1$, и мутации $cam^{Rd} - 1$, пока не «привязанной» к какой-либо ядерной группе сцепления [11].

Таблица 3

Количественные соотношения тетрад Р-, N- и Т-типа для исследованных пар генетических маркеров

	y-1	y-28	y-27	sr-1 (A)	sr-1 (П)	ery-1	ery-3	ery-4	ac-29	ac-17	ac-20
y-1	—	25 : 20 : 21		10 : 6 : 12							
y-28	37,18 $P < 0,01$	—			7 : 6 : 20			34 : 46 : 78			
y-27			—			4 : 10 : 18			3 : 15 : 16		
sr-1 (A)	8,76 $P > 0,05$			—							
sr-1 (П)		0,64 $P \geq 0,05$.		—				8 : 9 : 31		32 : 34 : 65
ery-1			4,94 $P < 0,05$			—	17 : 29 : 30				
ery-3						30,24 $P < 0,01$	—		11 : 7 : 42		
ery-4		24,1 $P < 0,01$							18 : 12 : 46		
ac-29			7,09 $P < 0,01$		0,16 $P > 0,05$	6,03 $P > 0,05$	1,10 $P > 0,05$	2,70 $P > 0,05$	—	7 : 8 : 14	
ac-17									4,59 $P > 0,05$	—	
ac-20					17,29 $P < 0,01$						—

Примечания. 1. Над диагональю указаны соотношения Р:N:T для исследованных маркеров. Под диагональю значения χ^2 и P_{H_0} для соотношения 1:1:4. 2. Две независимые фенотипически сходные мутации, определяющие устойчивость к стрептомицину (до 200 г/мл) sr-1 (A) и sr-1 (П), отнесены нами к единственному ядерному локусу sr-1, известному в литературе у хламидомонады [21].

Количественные соотношения тетрад Р-, N- и Т-типа для исследованных пар гекетических маркеров

	can ^R	act ^R	arg-7	nlc-13	mt	pf-2	lts 1-30	lts 1-164	lts 1-149
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
y-1				19:17:6 46,8 P < 0,01	8:7:30 0,06 P > 0,05				21:29:8
y-28	14:12:27 6,18 P < 0,05								
y-27	18:24:30 21,75 P < 0,01								
sr-1 (A)				42:35:24 85,3 P < 0,01					
sr-1 (П)		6:7:29 0,07 P ≥ 0,05				12:13:34 2,16 P > 0,05		4:11:13 P > 0,05	
ery-1	6:7:13 P > 0,05	9:2:11 P > 0,05				6:6:9 P > 0,05			
ery-3	12:12:39 0,63 P > 0,05					8:11:26 2,18 P > 0,05			
ery-4	32:31:38 44,1 P < 0,01	12:14:52 0,15 P > 0,05	8:11:13 10,82 P < 0,01			16:12:24 10,68 P < 0,01	6:6:7 P < 0,05		
ery-5	22:18:30 13,5 P < 0,01					10:11:13 12,38 P < 0,01			

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ac-29	45 : 44 : 203 1,08 $P > 0,05$	15 : 18 : 70 0,34 $P > 0,05$			75 : 0 : 0	14 : 10 : 76 0,82 $P > 0,05$			
ac-17				40 : 34 : 18	8 : 10 : 36 0,22 $P > 0,05$	17 : 20 : 8 4,9 $P < 0,01$			
can ^R						38 : 46 : 56 46,30 $P < 0,01$			
act ^R	30 : 32 : 119 0,13 $P > 0,05$			17 : 12 : 36 4,88 $P > 0,05$		11 : 13 : 44 0,26 $P > 0,05$			21 : 16 : 33 13,6 $P < 0,01$
nic-13					10 : 12 : 38 0,5 $P < 0,5$	16 : 18 : 12 37,7 $P < 0,01$			24 : 27 : 12 64,7 $P < 0,01$
nic-11									10 : 11 : 5 26,4 $P < 0,01$
nic-5									12 : 11 : 34 1,4 $P > 0,05$

Примечания. 1. Кроме соотношений P:N:T указаны значения χ^2 и P_{H_0} для соотношения 1:1:1 по каждой паре генов. 2. Аллельность мутации lts1-30 и lts1-149 показана в работе В. И. Чемериловой [14].

Выделенные на селективной среде эритромицинустойчивые штаммы оказались гетерогенными по фенотипическому проявлению в гетеро- и миксотрофных условиях роста в присутствии и отсутствии антибиотика в среде [5]. Гибридологический анализ четырех из них показал, что во всех случаях устойчивость к эритромицину наследуется по менделевской схеме. Мутации *ery-1* и *ery-3* не обнаруживают сцепления с маркерами VI, VII и XI групп сцепления (скр. С-740, С-733, см. табл. 2, 3, 4). Частоты Р-, N и Т-типов тетрад в парах *ery^R/cap^R* и *ery^R/pf-2* указывают на отсутствие сцепления мутаций *ery-1* и *ery-3* со своими центромерами. Сочетание этих двух мутаций в одном скрещивании позволило выявить независимость их наследования относительно друг друга (скр. С-746, С-748, табл. 2, 3 и 4). Для мутации *ery-5* показано отсутствие сцепления с центромерными маркерами *cap^R* (VII группа сцепления) и *pf-2* (XI группа сцепления) и сцепление этого фактора со своей центромерой (С-743, табл. 2, 4). Мутация *ery-4* не сцеплена с маркерами I, VI, VII и XI групп сцепления и с некоторыми исследуемыми нами мутациями (*y-28*, *lts-1*). Частоты тетрад Т-типа в случаях *ery-4/arg-7*, *ery-4/pf-2* и *ery-4/cap^R* также свидетельствуют о сцеплении этого гена со своей центромерой (скр. С-730, С-738, С-717, С-720, табл. 2, 3 и 4). В пяти из семи тетрад от скрещивания 730—109а (*ery^R-4*, *mt⁺*) × 740-28з (*ery^R-1*, *ac29*, *mt⁻*) выявлены случаи выщепления эритромицинчувствительных форм, что прямо указывает на существование двух различных локусов *ery-4* и *ery-1*.

Таким образом, две мутации (*ery-4* и *ery-5*) обнаруживают сцепление со своей центромерой и, возможно, представляют собой мутации одного локуса или тесно сцепленных локусов. Отсутствие сцепления мутаций *ery-1* и *ery-3* между собой и с центромерным маркером XI группы сцепления, а также независимость наследования мутаций *ery-1* и *ery-4* свидетельствует, возможно, о большем числе ядерных генов, контролирующих признак резистентности к эритромицину, чем это было известно до настоящего времени [16].

Низкая фертильность зооспор в наших скрещиваниях являлась серьезным фактором, мешающим проведению тетрадного анализа. Ранее уже обращалось внимание на то, что в серии скрещиваний с использованием мутантов *yellow*, полученных на основе американских штаммов (494, *sr-u-2—60*) с помощью УФ-лучей [6], наблюдается пониженная выживаемость зооспор, прошедших мейоз [1].

Использование рекомбинантов, по нашим данным, может представлять собой один из путей повышения фертильности мейотического потомства. Так, исходя из результатов, представленных в табл. 5, можно с уверенностью констатировать, что в тех случаях, когда в качестве одного из партнеров участвует рекомбинант (С-729, С-751, С-754), жизнеспособность зооспор увеличивается. Если же оба партнера в скрещивании являются рекомбинантами, то доля леталей становится еще меньше (С-727, С-728). Участие рекомбинантов II поколения, т. е. прошедших два тура скрещивания (С-754, С-753), также поддерживает летальность мейотического потомства на относительно низком уровне. Наиболее эффективным, с точки зрения фертильности, явилось в наших опытах гомозаллельное скрещивание С-755 (*y-27* × *y-27*, см. табл. 5).

Данные по летальности зооспор в скрещиваниях мутантов представляют собой доказательство того, что вне зависимости от природы исследуемого генетического изменения (*y*-структура мембранных белков хлоропласта, *ery^R* — структура хлоропластных рибсом), рекомбинанты в гибридологическом анализе дают более жизнеспособное потомство, чем исходные штаммы (табл. 5). Однако «комбинирование»

в одной зиготе различных мутаций, затрагивающих структуру хлоропластных компонентов (C-751 — y/str^R; C-717, C-745, C-757-y/ery^R), приводит к существенному снижению жизнеспособности мейотического потомства.

Таблица 5

Частота встречаемости леталей в мейотическом потомстве мутантов типа yellow и ery^R

Шифр скрещивания	Исследуемые маркеры	Типы рекомбинантов	Общая летальность, %	Летальность по группе, $\bar{x} \pm m$, %	Значение
C-704	y-27 \times can ^R	Исх. \times исх.	32,2	$39,2 \pm 6,45$	
C-705	y-28 \times can ^R		46,1		
C-729	y-28 \times sr-1	Рек. I \times исх.	15,2	$20,2 \pm 4,30$	<u>2,42</u>
C-751	y-27 \times sr-u-2		26,8		
C-734	y-76 \times sr-1		18,7		
C-727	y-28 \times can ^R	Рек. I \times рек. I	11,2	$12,0 \pm 0,75$	<u>3,50</u>
C-728	y-28 \times can ^R		12,7		
C-754	y-27 \times can ^R	Исх. \times рек. II	13,9	$10,4 \pm 3,55$	<u>3,00</u>
C-753	y-27 \times Д. т.		6,8		
C-756	y-27 \times y-27	Рек. II \times рек. II	18,0		
C-755	y-27 \times y-27		1,5	$9,8 \pm 7,25$	
C-740	ery-1 \times ac-29	Исх. \times исх.	6,3	$25,3 \pm 17,1$	<u>0,09</u>
C-733	ery-3 \times ac-29	" 1 сут.	51,0		
		" 2 сут.	18,6		
C-717	ery-4 \times y-28	" 1 сут.	23,4	$26,9 \pm 4,53$	
		" 2 сут.	—		
C-745	ery-1 \times y-27	Рек. I \times рек. I	33,7	$15,5 \pm 6,7$	
C-757	ery-3 \times y-27		23,6		
C-748	ery-1 \times ery-3	Рек. I \times рек. I	8,8		
C-746	ery-1 \times ery-3		22,2		

Примечания. 1. Рекомбинанты I, II — штаммы, полученные одним или двумя тура предварительных скрещиваний. 2. \bar{x} — среднее значение. 3. Подчеркнутые значения — полученные одной или двумя чертами, получены при сравнении со средними, подчеркнутыми соответственно одной или двумя чертами.

Исходя из полученных нами данных, можно сделать следующее заключение: гибридизация, мейоз способствует «очищению» генотипа клеток хламидомонады от «вредных» сублетальных изменений, накапливаемых, по-видимому, как в процессе вегетативного размножения, так и в период воздействия мутагеном (при получении мутаций). К аналогичному выводу приходят и другие исследователи, работающие с иными штаммами этой же коллекции *Chlamydomonas reinhardtii* [12].

Наряду с этим нами было обнаружено, что выживаемость зооспор зависит от времени изоляции их на пластинках. Жизнеспособность мейотических потомков может увеличиваться, если изоляцию проводить на вторые сутки после прохождения мейоза в зиготах (скр. C-733, табл. 5). Вероятно, механические воздействия при изоляции зооспор, успешных одно- или двукратно поделиться в меньшей степени влияют на их выживаемость.

Таким образом, относительно простой тест на способность мейотического потомства хламидомонады к вегетативному размножению является хорошим критерием отбора на фертильность и характеристикой поведения и проявления различных типов мутаций в мейозе. Тет-

радный анализ наиболее эффективен при привлечении в скрещивания рекомбинантов, прошедших несколько туров скрещивания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Различные типы пигментных мутаций, а также мутаций, специфично модифицирующих структуру хлоропластных рибосом (ant^R) у зеленой одноклеточной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, рассматриваются нами как модель изучения генетики признаков фотосинтетического аппарата. С целью изучения широкого круга вопросов генетической детерминации структуры и функции хлоропласта на основе гибридизации мутантных штаммов, полученных в лаборатории генетики микроорганизмов БиНИИ ЛГУ, и адаптированных маркированных линий из лаборатории Р. Левина, В. Эберсольда и Н. Гилхама (США), созданы множественно маркированные высокофертильные штаммы, наиболее ценные из которых имеют центромерные мутации $arg-7$ (I), $ac-17$ (III), can^R (VII), $sr-1$ (IX), $nic-13$ (X), $pf-2$ (XI) в сочетании с мутациями lts , y , str^R , ery^R .

Повышение жизнеспособности и фертильности полученных линий было достигнуто путем многократного использования мейотического потомства определенного генотипа в системе гетеро- и гомоаллельных скрещиваний.

Показано, что мутации $lts-1$, $y-1$, $y-27$ и $y-28$ обнаруживают сцепления со своими центромерами и не сцеплены с центромерными маркерами I, VII, IX и X групп сцепления.

Выявлено существование новых локусов эритромицинустойчивости.

Наличие коллекции штаммов, имеющих различные сочетания мутаций, блокирующих или изменяющих разные признаки фотосинтетического аппарата клеток хламидомонады, предопределяет возможность более успешного комплексного изучения признаков хлоропласта с включением биохимических и биофизических методов анализа.

Summary

The first results of studies on construction of multiple-marked lines are presented. Such lines have been prepared in course of hybridization of the mutant strains induced in this laboratory with some marked lines from foreign collections. The most valuable of new lines possess both centromere markers: $arg\ 7$ (linkage group I), $ac\ 17$ (III), can^R (VII), $sr\ I$ (IX), $nic\ 13$ (X), $nic\ 5$ (XIII), and such mutations as lts (lightsensitivity), y (yellow), str^R , ery^R , cam^R (resistance to streptomycin, erythromycin and chloramphenicol, respectively).

Pigment mutations of different types and mutations that modify the chloroplast ribosomal structure (ant^R) are the adequate models for studying the structure and function of the photosynthetic apparatus.

The increase of the viability and fertility of the mutant lines is achieved by repeated use of meiotic progeny in the system of hetero- and isoallelic crosses.

УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александрова Н. Н. Однородительски и двуродительски наследуемые мутации, блокирующие светозависимое накопление хлорофилла у хламидомонады. — В кн.: Матер. Всесоюз. симпозиума «Генетические функции органоидов цитоплазмы». Л., 1974, с. 37—38.
2. Бояджиев П. Х. Описание культуральных и индивидуальных признаков окраски хламидомонады (тезисы). — В кн.: Механизмы биологических процессов. Л., 1973, с. 7.
3. Квитко К. В., Столбова А. В., Фам Тхань Хо. Анализ признаков, связанных с функцией пластид у одноклеточного эукариота *Chlamydomonas reinhardtii*. — В кн.: Матер. I Всесоюз. симпозиума по цитоплазматической наследственности. Л., 1974, с. 29—34.

4. Квитко К. В., Бояджиев П. Х., Чунаев А. С. и др. Генотипическая и фенотипическая изменчивость пигмент-липопротеидного комплекса мутантов с измененной реакцией на свет у *Chlamydomonas reinhardtii* 137C. — Тр. Петергофск. биологич. ин-та, № 25, 1977, с. 106—132.
5. Квитко К. В., Чунаев А. С., Тугаринов В. В. Действие органелло-специфических антибиотиков на пигмент-белковолипидный комплекс мембран хлоропласта у хламидомонады. — В кн.: Молекулярная генетика митохондрий. М.; Л., 1977, с. 44—55.
6. Квитко К. В. Биология и генетика штаммов 137C *Chlamydomonas reinhardtii*. — В кн.: Тр. Петергофск. биологич. ин-та, № 25, 1977, с. 75—105.
7. Сэджер Р. Цитоплазматические гены и органеллы. М., 1975, 432 с.
8. Столбова А. В. Генетический анализ пигментных мутаций *Chlamydomonas reinhardtii*. — Сообщ. I. Идентификация основных пигментов и описание коллекции мутантных форм. — Генетика, 1971, т. 7, № 9, с. 90—124.
9. Столбова А. В. Генетический анализ пигментных мутаций *Chlamydomonas reinhardtii*. Сообщ. III. Анализ мутаций бесхлорофильности и светочувствительности в дв- и тригибридных расщеплениях. — Генетика, 1977, т. 8, № 4, с. 123—128.
10. Столбова А. В., Фам Тхань Хо, Квитко К. В. Группа сцепления мутаций, нарушающих функции хлоропласта у хламидомонады. — Исследования по генетике, вып. 6. Л., 1976, с. 54—60.
11. Тугаринов В. В., Левченко О. Б. Взаимодействие мутаций светочувствительности и антибиотикорезистентности у хламидомонады. — Генетика, 1976, т. 12, № 3, с. 103—110.
12. Хропова В. И. Селекция на повышение фертильности у хламидомонады. — В кн.: Тезисы III съезда ВОГиС им. Н. И. Вавилова, вып. 4, с. 85.
13. Чемерилов В. И., Квитко К. В. Изучение модифицирующих пигментацию мутаций у штаммов *Chlamydomonas reinhardtii* разной плоидности. Сообщ. I. Диплоиды, гетерозиготные по мутациям *lts-1-31*. — Генетика, 1976, т. 12, № 9, с. 44—49.
14. Чемерилов В. И. Изучение модифицирующих пигментацию мутаций у штаммов *Chlamydomonas reinhardtii* разной плоидности. Сообщ. 2. Компаунды по мутациям *lts-1* и их использование для получения триплоидных культур. — Генетика, 1967, т. 14, № 1, с. 154—162.
15. Чунаев А. С. Генетическая реконструкция системы светозащиты у зеленых водорослей. — Исследования по генетике, вып. 5. Л., 1975, с. 111—121.
16. Bogard L. et. al. Intergenomic cooperation in the synthesis of chloroplast ribosomes of *Chlamydomonas*. — In: Abstr. XII Intern. Bot. Congr., 1975, pt. II, p. 398.
17. Grobe B., Arnold C. G. Evidence of a large ramified mitochondrion in *Chlamydomonas reinhardtii*. — Protoplasma, 1975, vol. 86, N 1—3, p. 291—294.
18. Lee R. W., Sapp Y. A. Nuclear mutation suppresses non-Mendelian streptomycin resistance in *Chlamydomonas*. — J. Cell. Biol. Abstr., 1976, vol. 70, N 2, pt. 2, p. 72a.
19. Levine R. P., Goodenough U. Genetics of photosynthesis and chloroplast *Chlamydomonas reinhardtii*. — Ann. Rev. Genet., 1970, vol. 4, p. 397—408.
20. Sager R. Inheritance in the green alga *Chlamydomonas*. — Genetics, 1955, vol. 40, p. 476.
21. Sager R. Streptomycin as a mutagen for non-chromosomal genes. — PNAS USA, 1962, vol. 48, p. 2018.
22. Sager R., Ramanis Z. The number of copies per cell of chromosomal genes. — Genetics, 1967, vol. 56, p. 585.
23. Schimmer O., Arnold C. G. The suppression der auserkariotisch bedingten Streptomycin-abhangigkeit bei *Chlamydomonas reinhardtii*. — Archiv Mikrobiol., 1970, Bd. 73, S. 195—200.
24. Smyth R., Martinec C. W., Ebersold W. T. Linkage of six gene in *Chlamydomonas reinhardtii* and the construction of linkage test strains. — J. Bacteriol. 1975, vol. 124, N 3, p. 1615—1617.